

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СОВРЕМЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ

ПОИСК НОВЫХ АНТИДЕПРЕССАНТОВ И АНКСИОЛИТИКОВ НА ОСНОВЕ ПЕПТИДОВ, АНАЛОГОВ ПРИРОДНЫХ БИОРЕГУЛЯТОРОВ

**К.В. Бородина¹, В.П. Голубович¹,
О.Г. Воскресенская², А.С. Белякова²**

*¹Государственное научное учреждение «Институт биоорганической химии
НАН Беларуси», Минск, ksenia_borodina@ymail.com*

²Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

В последние несколько десятилетий наблюдается повышение интереса ученых к поиску новых препаратов на основе пептидных соединений. Такое пристальное внимание исследователей к данной группе веществ, вероятно, обусловлено их прямым или опосредованным участием в регуляции множества функций организма человека, а также малой токсичностью, высокой селективностью и эффективностью лекарств на их основе [1]. Поэтому не удивительно, что препараты на базе синтетических аналогов природных регуляторных пептидов постепенно расширяют свое присутствие на рынке лекарственных средств. На сегодняшний день разработан ряд лекарств на основе пептидов, применяющихся для лечения диабета, онкологических заболеваний, ожирения, болезней желудочно-кишечного тракта и т.д. [2]. Пептиды используют как лиганды в сорбентах для гемодиализа, а также являются они компонентами косметических средств [3, 4]. Исследуется возможность создания антимикробных препаратов на основе данного класса веществ, активно изучается пептидная регуляция старения [4, 5, 6].

Перспективным направлением является дизайн пептидных соединений, обладающих поведенческой активностью, а также выполняющих функции нейропротекторов. На сегодняшний день выявлен широкий спектр пептидов, задействованных в регулировании стрессовых реакций, эмоций и поведения человека [7, 8, 9]. На рынке России, Беларуси и других стран СНГ представлены препараты Семакс и Селанк, аналоги АКТГ₄₋₁₀ и тафтинна соответственно, обладающие анксиолитическим, антидепрессивным и ноотропным действием [10]. По этой причине все более активно исследуется возможность создания пептидных антидепрессантов и анксиолитиков. В отличие от представленных на рынке антидепрессантов и транквилизаторов непептидной природы, пептиды представляются не только более безопасной и эффективной, но и, в некоторых случаях, экономически выгодной альтернативой.

Выявлено, что гормоны задней доли гипофиза – окситоцин и аргинин-вазопрессин (АВП) – принимают активное участие в регулировании агрессии, стресса, тревоги, социального поведения, обучения и памяти [11, 12]. Так показано, что интраназальное введение окситоцина способствует снижению стресса у животных с пассивной стратегией поведения [13, 14]. Найдено, что окситоцин снижает агрессию посредством воздействия на дофаминергическую и серотонинергическую систему [15]. В отличие от окситоцина, АВП участвует в модулировании агрессии и тревоги. С другой стороны АВП участвует в регуляции циркадианных часов супрахиазматического ядра, при этом он не только повышает уровень его электрической активности, но и оказывает влияние на параметры спайкового кодирования информации, во многом определяющего особенности взаимодействия между

нейронами [16]. В этой связи данные гормоны могут представлять основу для создания новых пептидных антидепрессантов и транквилизаторов.

Не смотря на ряд неоспоримых достоинств, значительным недостатком пептидных соединений, который замедляет их активное использование в медицине, является низкая стабильность к действию эндогенных протеаз, что влечет за собой ограничение их биодоступности при периферических способах введения. С целью увеличения стабильности фрагментов пептидов к действию эндогенных протеаз разработан ряд стратегий, таких как циклизация, включение неприродных аминокислот, модификация N- и C-концевых последовательностей и т.д..

Ранее было показано, что замена Cys⁶ в C-концевом фрагменте АВП на N-Ас-DMet-ОН приводит к созданию тетрапептида N-Ас-DMet-Pro-Arg-Gly-NH₂, который проявляет яркие ноотропные и антидепрессивные свойства в чрезвычайно малых дозах [17]. В данной работе была проведена замена Cys⁶ на N-Ас-DSer-ОН, разработана схема синтеза и исследованы нейротропные эффекты N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂.

Синтез тетрапептида N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ осуществляли классическими методами в растворе согласно схеме (рисунок 1).

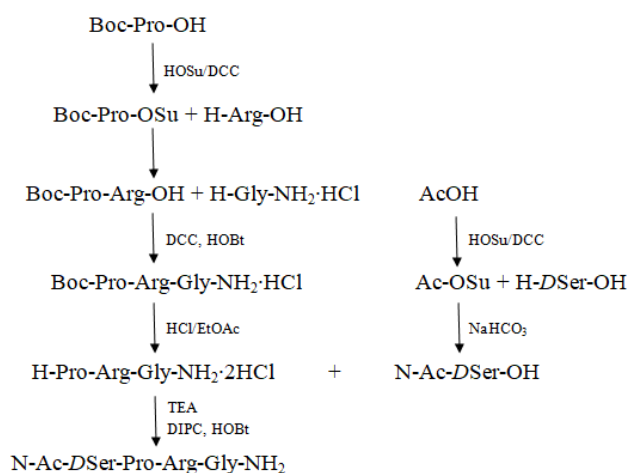


Рисунок – Схема синтеза тетрапептида N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂

Дипептид Boc-Pro-Arg-ОН получали методом активированных эфиров, используя сукцинимидный эфир Boc-Pro-ОН, который вводили в последующую стадию без выделения. Защита гуанидиновой группы аргинина осуществлялась протонированием. На стадии получения трипептида Boc-Pro-Arg-Gly-NH₂ исходные реагенты Boc-Pro-Arg-ОН и H-Gly-NH₂·HCl тщательно измельчали и перемешивали в течение 1 ч в ДМФА для перехода протона с аминогруппы H-Gly-NH₂·HCl на гуанидиновую группу остатка аргинина в трипептиде. В качестве конденсирующих агентов использовали дициклогексилкарбодиимид (DCC) и диизопропилкарбодиимид (DIPC) с добавлением 1-оксибензотриазола (HOBt) в качестве противорацемической добавки. Синтез N-Ас-DSer-ОН осуществляли в суспензии при pH 8 с использованием сукцинимидного эфира уксусной кислоты, в качестве растворителя использовали смесь H₂O – диоксан в объемном отношении 5:8.

Идентификацию целевых соединений осуществляли методом масс-спектрометрии, гомогенность подтверждали методами ТСХ и аналитической ВЖХ.

Исследование влияния N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ на депрессивные и анксиолитические показатели поведения животных проводили на половозрелых самцах нелинейных белых крыс массой 220–250 г. Опыты показали, что при однократном интраназальном введении в дозах 0,01; 1 и 10 мкг/кг N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ оказывает ярко выраженное антидепрессантное действие. Причем наиболее эффективная доза 1 мкг/кг. Вы-

двинуто предположение, что данный тетрапептид может являться агонистом V1bR рецепторов.

Проведенные эксперименты не позволяют однозначно судить о анксиолитическом или анксиогенном действии данного соединения, однако обнаружено, что при однократном интраназальном введении в дозах 0,01; 1 и 10 мкг/кг N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ улучшает обучение животных с положительным и отрицательным подкреплением.

Полученные результаты позволяют предположить, что на основе тетрапептида N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ возможно создание нового лекарственного средства антидепрессантного и ноотропного действия.

Список использованных источников

1. Шабанов, П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры / П. Д. Шабанов // Психофармакология и биологическая наркология. – 2008. – Т. 8, № 3–4. – С. 2399–2425.
2. Морозов, В. Г. Пептидные тиомиметики / В. Г. Морозов, В. Х. Хавинсон, В. В. Малинин. – СПб: Наука, 2000. – 158 с.
3. Лапко, А. В. Разработка гемосорбентов для связывания IgG на основе олигопептидных лигандов / А. В. Лапко [и др.] // Вести Национальной академии наук Беларуси. – 2016. – № 1. – С. 57–60.
4. Хавинсон, В. Х. Перспективы применения пептидных биорегуляторов в геронтокосметологии / В. Х. Хавинсон, Т. Н. Королькова, Г. А. Рыжак // Вестник дерматологии и венерологии. – 2005. – № 4. – С. 56–59.
5. Азимова, В. Т. Эндогенные антимикробные пептиды человека / В. Т. Азимова, Н. И. Потатуркина-Нстерова, А. С. Нестеров // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 1-1. – С. 1337.
6. Хавинсон, В. Х. 35-летний опыт исследований пептидной регуляции старения / В. Х. Хавинсон, В. Н. Анисимов // Успехи герантологии. – 2009. – Т. 22, № 1. – С. 11–23.
7. Соколова, Н. А. Стресс на ранних стадиях онтогенеза: пептидергическая коррекция / Н. А. Соколова [и др.]. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2016. – 254 с.
8. Griebel, G. 50 years of hurdles and hope in anxiolytic drug discovery / G. Griebel, A. Holmes // Nature reviews Drug discovery. – 2013. – Vol. 12, № 9. – 667–687.
9. Крупина, Н. А. Пептидергические механизмы регуляции эмоционально-мотивационного поведения / Н. А. Крупина, Н. Н. Хлебникова // Успехи физиологических наук. – 2010. – Т. 41, № 2. – С. 3–26.
10. Петровский, А. К. Адаптогенная активность Семакса и Селанка: экспериментальное исследование / А. К. Петровский [и др.] // Медицинский альманах. – 2017. – Т. 46, № 1. – С. 114–118.
11. Bosch, J. O. Both oxytocin and vasopressin are mediators of maternal care and aggression in rodents: from central release to sites of action / J. O. Bosch, I. D. Neumann // Hormones and behaviour. – 2012. – Vol. 61. – P. 293–303.
12. Cliz, N. I. Oxytocin and vasopressin in the rodent hippocampus / N. I. Cliz, A. Cymerblit-Sabba, W. S. Young // Genes, brain and behaviour. – 2019. – Vol. 8, № 1. – 34 p.
13. Виноградова, Е. П. Влияние интраназального введения окситоцина на поведение крыс с разной стратегией поведения, подвергнутых хроническому стрессу / Е. П. Виноградова, Д. А. Жуков // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 1. – С. 3–9.
14. Виноградова, Е. П. Влияние окситоцина и тиреолиберина на тревожность у самцов белых крыс при социальном стрессе / Е. П. Виноградова [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности. – 2017. – Т. 67, № 3. – С. 341–348.

15. Young, K. A. The neurobiology of social attachment: a comparative approach to behavioral, neuroanatomical, and neurochemical studies / K. A. Young, Y. Liu, Z. Wang // Comparative biochemistry and physiology. – 2008. – Vol. 148, Iss. 4. – P. 401–410.

16. Ткачева, М. А. Роль аргинин-вазопрессина в регуляции активности нейронов циркадианных часов супрахиазматического ядра гипоталамуса / М. А. Ткачева [и др.] // Ульяновский медико-биологический журнал. – 2018. – № 1. – С. 145–158.

17. Стаханова, А. А. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) – Ас-D-MPRG на поведение крыс разных возрастных групп / А. А. Стаханова [и др.] // Acta nature (русскоязычная версия). – 2008. – 2017. – С. 56–57.